

総説

エポキシ糖の反応性を利用する立体制御された分岐糖ヌクレオシドの合成研究：抗 HIV 活性を有する Festinavir の開発

原口一広

昭和大学薬学部

要 旨

1', 2'-エポキシウラシルヌクレオシドのエポキシ化の面選択性は水酸基の保護基の種類に依存して変化し, 3', 5'位がジ-*t*-ブチルシリレン基で保護された基質を用いると, 1', 2'-“down”-エポキシドが単一の立体異性体として得られた。1', 2'-“down”-エポキシウリジンと有機アルミニウム試剤との反応では, 目的とする“*syn*-ring-opened product”であるアノマー位に炭素鎖が分岐したβ-ヌクレオシドと共に“*syn*-ring-opened product”であるα-アノマーが副生した。α-アノマーの生成は塩基部2位のカルボニル酸素原子へ配位したアルミナートからの分子内リガンドトランスファーに起因していると考えた。事実, エポキシヌクレオシドのN⁹位をベンジルオキシメチル基やベンゾイル基で保護した基質の環開裂反応では, 目的とするβ-ヌクレオシドのみが生成した。

4', 5'-不飽和チミンヌクレオシドから得られた4', 5'-エポキシドとトリメチルアルミニウムとの反応では, 4'位に導入されるメチル基の立体化学は3'位のシリルオキシ基の立体配置により制御された。すなわち, トレオ体は4'-メチル-β-D-ヌクレオシドを単一の立体異性体として与え, エリトロ体は4'-メチル-α-L-ヌクレオシドを主生成体として与えた。有機アルミニウム試剤としてトリビニルアルミニウムやトリエチニルアルミニウムを用いることにより, 4'-ビニル体および4'-エチニル体を得ることができた。4', 5'-エポキシヌクレオシドと有機アルミニウム試剤との反応を基盤とする4'位での立体選択的な炭素-炭素結合の構築に関する研究の過程で得られた2', 3'-ジデヒドロ-3'-デオキシ4'-エチニルチミジン(Ed4T, Festinavir)は抗 HIV 薬であるスタブジンよりも強力な抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった。本化合物はその後の研究により, スタブジンに認められているミトコンドリア DNA 合成阻害に基づく毒性を示さないことも明らかとなった。

Key Words : ヌクレオシド, エポキシド, 立体制御, 分岐糖, 抗 HIV 活性

1. はじめに

後天性免疫不全症候群(AIDS, acquired immunodeficiency syndrome)は AIDS ウィルス(human immunodeficiency virus, 以下 HIV)がT4陽

性なヘルパー/インデューサー細胞に感染し, それらの減少による細胞性免疫不全を基調とした日和見感染や腫瘍形成を伴う伝染性疾患である。HIV はレトロウイルスに属する RNA 型ウイルス

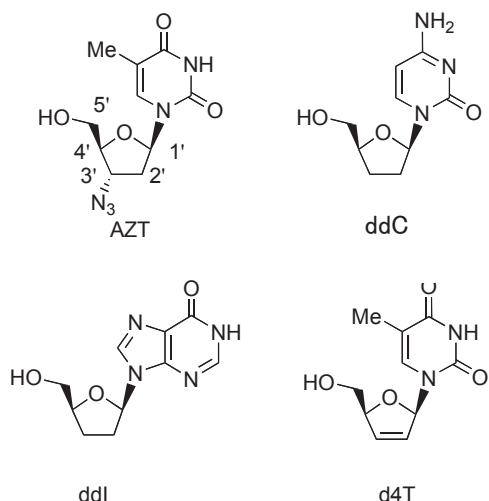


図1 抗 HIV 薬：ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤 (NRTIs)

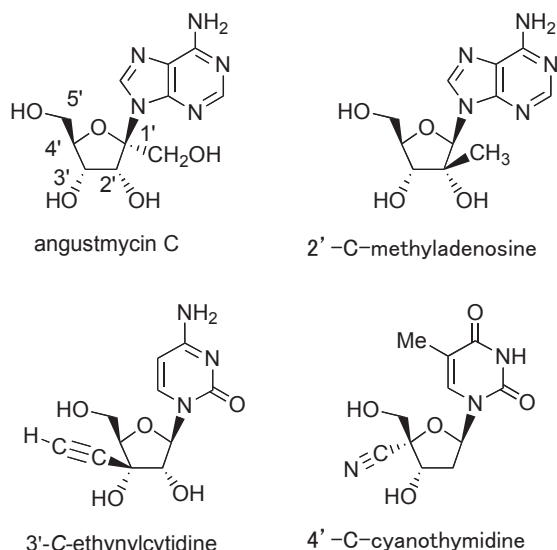


図2 生物活性を示す分岐糖ヌクレオシド

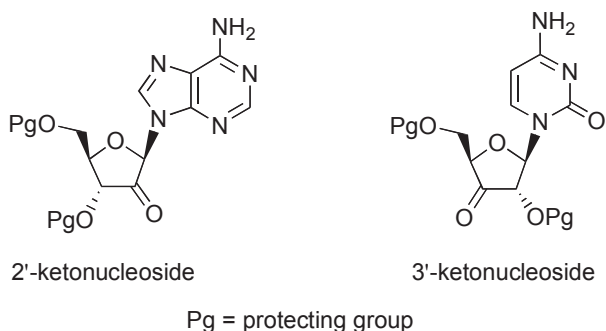


図3 2'-あるいは3'-分岐糖ヌクレオシドの原料として用いられているケトヌクレオシド

であるが他の癌ウイルスとは異なり感染細胞を殺してしまう。レトロウイルスは逆転写酵素 (reverse transcriptase: RT)を持つことを特徴とし

ており, RT により自己の RNA から遺伝子 DNA(プロウイルス DNA)を合成する. RT は HIV が増殖するために重要な機能を担っている酵素であり, 宿主での本酵素の活性が極めて低いことから, 抗 HIV 剤の開発には格好の標的酵素である. 1987年にヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤(nucleoside reverse transcriptase inhibitor: NRTI)である AZT(図1)が抗 HIV 剤として承認されたことを契機に, ヌクレオシドのペントフラノース部分が化学修飾を受けた誘導体の合成とその抗 HIV 活性に関する研究が精力的に行われるようになった¹⁻⁴⁾. 現在では, ddC, ddI あるいは d4T などが臨床導入されている(図1). しかしながら, 長期連用による耐性ウイルスの出現や毒性の発現が問題となっており, さらに広い抗ウイルススペクトルを示しながら毒性の低い化合物が临床上必要とされおり, 修飾糖を有する新規ヌクレオシド化合物の合成研究が現在でも活発に行われている.

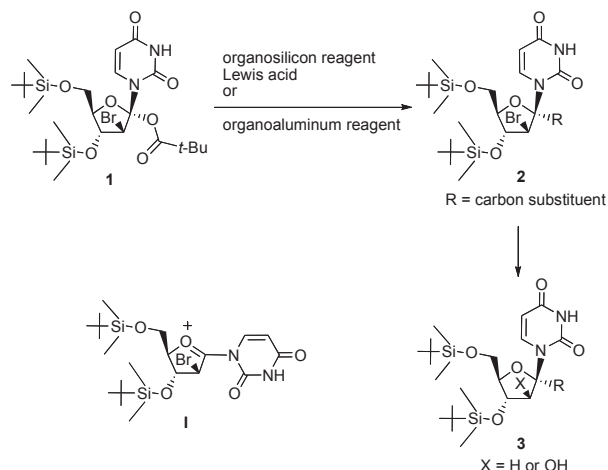
糖部分が修飾を受けたヌクレオシド誘導体の中で, ペントフラノース環に炭素鎖が分岐した化合物は分岐糖ヌクレオシドと呼ばれている. 分岐糖ヌクレオシドの中には生物活性を示すものが知られており, その一部を図2に示した. ヌクレオシド系抗生物質であるアングストマイシンCはアデノシンの1'位にヒドロキシメチル基が分岐した特徴的な構造を有しており, 抗腫瘍活性を示す⁵⁾. 一方, アデノシンの2'位にメチル基が分岐した2'-C-メチルアデノシン⁴⁾やシチジンの3'位にエチニル基を有する3'-C-エチニルシチジン⁶⁾はそれぞれ抗C型肝炎ウイルス活性あるいは抗腫瘍活性を示す. 更に, 4'-C-シアノチミジンは強力な抗 HIV 活性を示すことが報告されている⁷⁾.

2'-C-メチルアデノシンで代表される2'位が分岐した構造を有する化合物は天然から入手可能なヌクレオシドの2'位の二級水酸基を酸化して得られる2'-ケトヌクレオシド(図3)と炭素求核剤との付加反応により合成可能である. 同様に, 3'-ケトヌクレオシドは3'-C-エチニルシチジンをはじめとする3'-分岐糖ヌクレオシドを合成するための原料として用いられてきた.

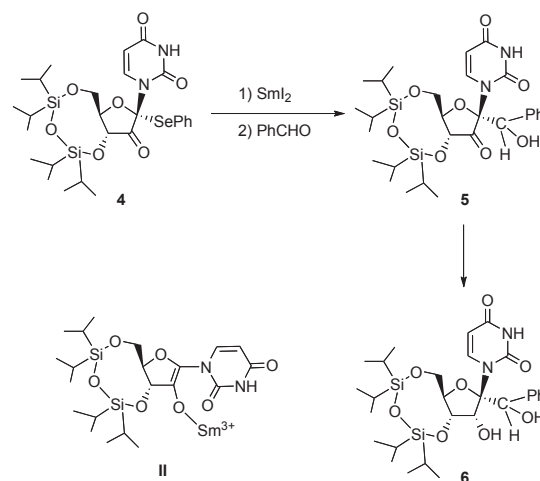
一方, ヌクレオシドの1'位あるいは4'位には炭

素官能基を導入するための足がかりとなる置換基が存在しないために、アングストマイシンCや4'-C-シアノチミジンなどの分岐糖ヌクレオシドの合成は困難であり、効率の良い合成法の開発は重要な課題の一つである。ヌクレオシドを利用する1'-分岐糖ヌクレオシドの最初の合成は1', 2'-不飽和ヌクレオシドのプロモ-ピバロイルオキシレーションにより得られる**1**と有機シリコン試剤あるいは有機アルミニウム試剤との求核置換反応を基盤としていた(スキーム 1)⁸⁾。この置換反応ではヌクレオシドアノメリックカルベニウムイオン(**I**)における臭素原子の隣接基関与により α 位での立体選択的な炭素-炭素結合の形成反応が進行し、得られた**2**はデオキシヌクレオシドやアラビノヌクレオシド**3**へ誘導することが可能であったが、この方法によりリボヌクレオシドを合成することは困難であった。この問題点を解決する合成法として、 α -ケトフェニルセレニド(**4**)から誘導したサマリウムエノラート**II**と求電子剤との反応が報告された(スキーム 2)⁹⁾。すなわち、エノラート**II**とアルデヒドとの反応で得られたアルドール**5**の立体選択的なヒドリド還元を行うことにより、1'-炭素置換リボヌクレオシド(**6**)の合成が可能となった。

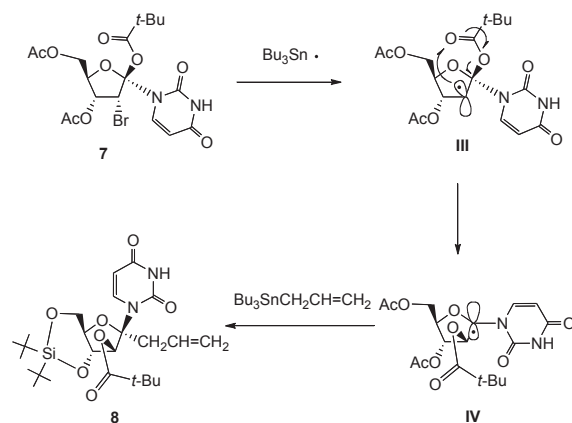
一方、アノメリックラジカルを反応中間体として利用する合成法も報告されている。プロモ-ピバロイルオキシ体(**7**)をラジカル条件に付すと、最初に生成する第二級炭素ラジカル(**III**)がアシルオキシ基の1, 2-転位によりアノメリックラジカル(**IV**)へ変換され、引き続く**IV**とアリルトリブチルスタナンとのラジカル置換反応により1'-C-アリルアラビノフラノシルヌクレオシド(**8**)が得られる(スキーム 3)¹⁰⁾。また、1', 2'-不飽和ヌクレオシドに対する求電子的なフェニルスルファニレーションにより得られる**9**とアリルトリブチルスタナンとの分子間でのラジカル置換反応による1'-アリルアラビノフラノシルヌクレオシド(**10**)の合成(スキーム 4)¹¹⁾や分子内にラジカルアクセプターを持つ**11**のラジカル閉環反応を利用する方法が報告されている(スキーム 5)¹²⁾。環化成績**12**はフッ化物イオンによるE2脱離反応により



スキーム 1：求核置換反応を基盤とする1'-分岐糖ヌクレオシドの合成

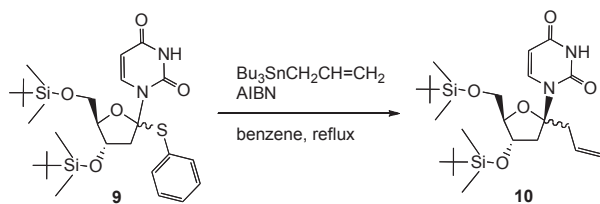


スキーム 2：求電子置換反応を基盤とする1'-分岐糖ヌクレオシドの合成

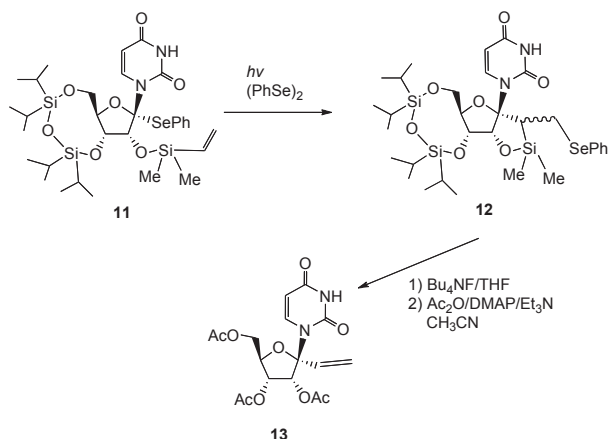


スキーム 3：ラジカル的1,2-アシルオキシを利用する1'-分岐糖ヌクレオシドの合成

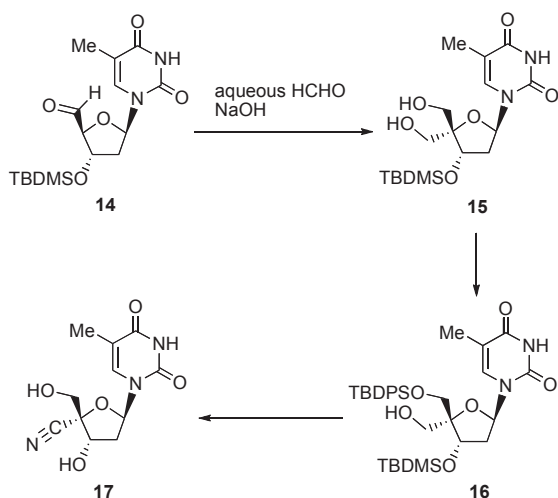
1'-C-ビニルウリジン(**13**)の合成に利用されている。以上のように、ヌクレオシドのアノマー位での求核置換反応、求電子置換反応およびラジカル



スキーム4：ラジカル的1,2-アシルオキシを利用する1'-分岐糖ヌクレオシドの合成



スキーム5：分子内ラジカル閉環を利用する1'-分岐糖ヌクレオシドの合成



スキーム6：アルドール-カニツァロ反応を鍵反応とする4'-分岐糖ヌクレオシドの合成

的な置換反応を利用する1'-分岐糖誘導体の合成が行われてきたが、導入できる置換基に制限があることやβ-ヌクレオシドを高い選択性で得ることが困難であるという問題点があった。

4'-C-シアノチミジンをはじめとする4'-分岐糖ヌクレオシドの合成はスキーム6に示したようにヌクレオシド5'-アルデヒド(14)のアルドール-カ

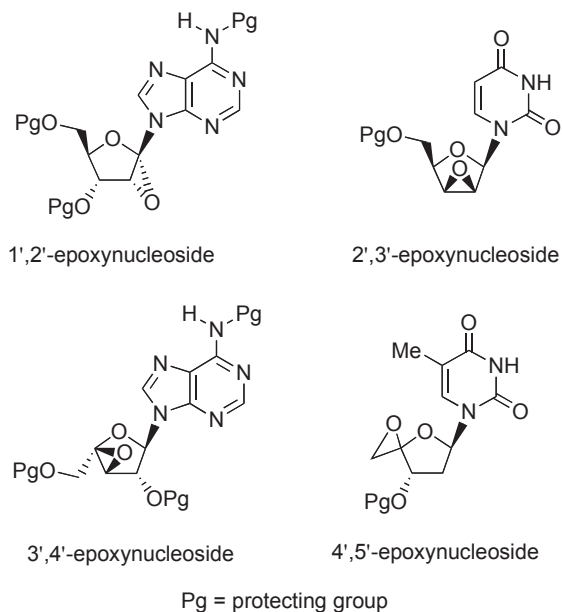
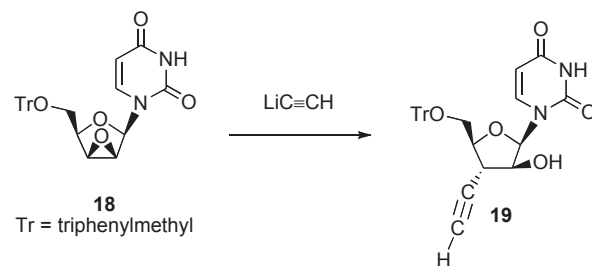


図4 エポキシ糖構造を有するヌクレオシド



スキーム7：2', 3'-エポキシヌクレオシドを利用する3'-分岐糖ヌクレオシドの合成

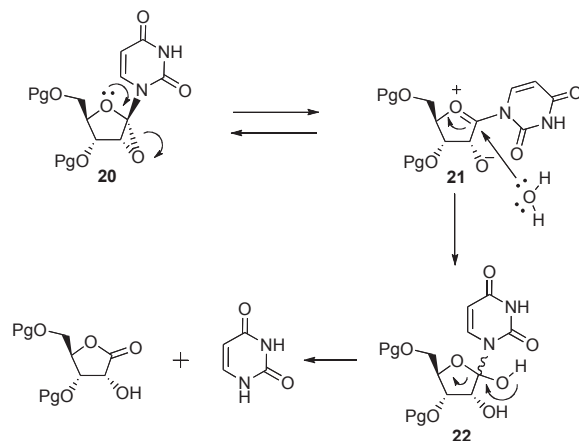
ニツァロ反応により得られる4'-ヒドロキシメチル体(15)の化学変換に基づいていた¹³⁾。すなわち、15から誘導した16の酸化反応により得られるアルデヒドのオキシム化とメシル酸のE2脱離反応により4'-C-シアノチミジン(17)が合成されている。この方法は現在最も汎用されているが、ヒドロキシメチル体16を得るために多行程を要することや導入できる置換基に制限があった。

2. エポキシヌクレオシドの合成的利用

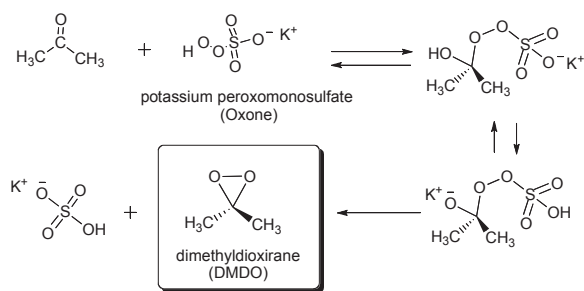
エポキシドの炭素求核剤による環開裂反応は炭素-炭素結合を構築する反応における重要な反応の一つとして知られている¹⁴⁾。エポキシ糖構造を有するヌクレオシド誘導体として、1', 2'-, 2', 3'-, 3', 4'-および4', 5'-エポキシドが考えられる(図4)。それらの中で、2', 3'-エポキシヌクレオシドが分岐糖ヌクレオシドの合成に利用され

ているにすぎなかった. すなわち, Walker らは2', 3'-リキソエポキシウリジン(18)をリチウムアセチリドと反応させることにより, 3'位にエチニル基が分岐したウラシルヌクレオシド(19)を合成している(スキーム 7)¹⁵⁾. 他の三種類のエポキシ糖ヌクレオシドは特徴的な共通構造としてフラノース環の酸素原子がエポキシ環に隣接した構造を有している. したがって, これらのエポキシドはオキソニウムイオンの形成を伴う環の開裂を受けやすいことが予想される. この構造的特徴は炭素求核剤の位置選択的な反応が期待できるが, 同時に不安定なため分岐糖ヌクレオシドの合成には利用されることはなかった. 例えば, 1', 2'-エポキシヌクレオシド(20)はオキソニウムイオン(21)との平衡状態となり, 水が共存するとヘミアセタール(22)を経由して, 核酸塩基とラクトンを与える(スキーム 8).

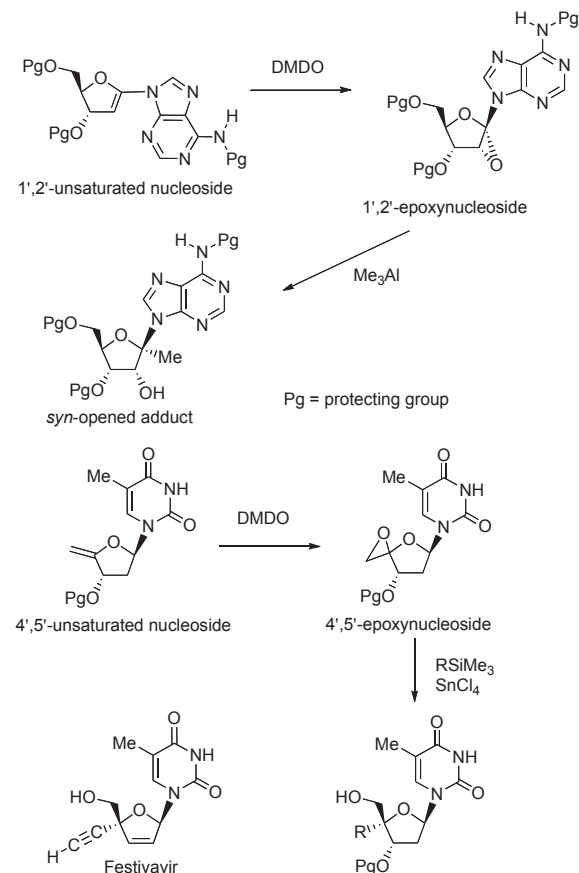
ジメチルジオキシラン(DMDO)¹⁶⁻¹⁸⁾は中性条件下, 非プロトン性の溶媒中でアルケンのエポキシ化を行うことができることから, 著者らは図4に示した不安定なエポキシ糖ヌクレオシドを利用する分岐糖ヌクレオシドの合成法を開発する上で適した酸化剤であると考えた. DMDO はアセトンのペルオキソー硫酸カリウム(Oxone)による酸化によりアセトン溶液として調製することができる(スキーム 9)¹⁹⁻²¹⁾. 著者らは, DMDO を用いることによりスキーム 10に示した1', 2'-および4', 5'-不飽和糖ヌクレオシドを対応するエポキシ糖ヌクレオシドへ効率よく変換することができるを見出した. 生成したエポキシ糖ヌクレオシドと炭素求核剤との反応を調べたところ, 1', 2'-エポキシヌクレオシドと有機アルミニウム試剤との反応においては, "syn-adduct" 成績体を立体選択的に与えた. また, 4', 5'-エポキシヌクレオシドと有機シリコン試剤との反応では, 4' α 側での立体選択的な炭素-炭素結合の構築が可能となった. 本総説では, エポキシ糖ヌクレオシドを利用する1'-あるいは4'-分岐糖ヌクレオシドの立体選択的な合成について特に反応機構を中心に概説する. 3', 4'-エポキシヌクレオシドの化学は紙面の都合上述べないので論文を参照されたい²²⁾.



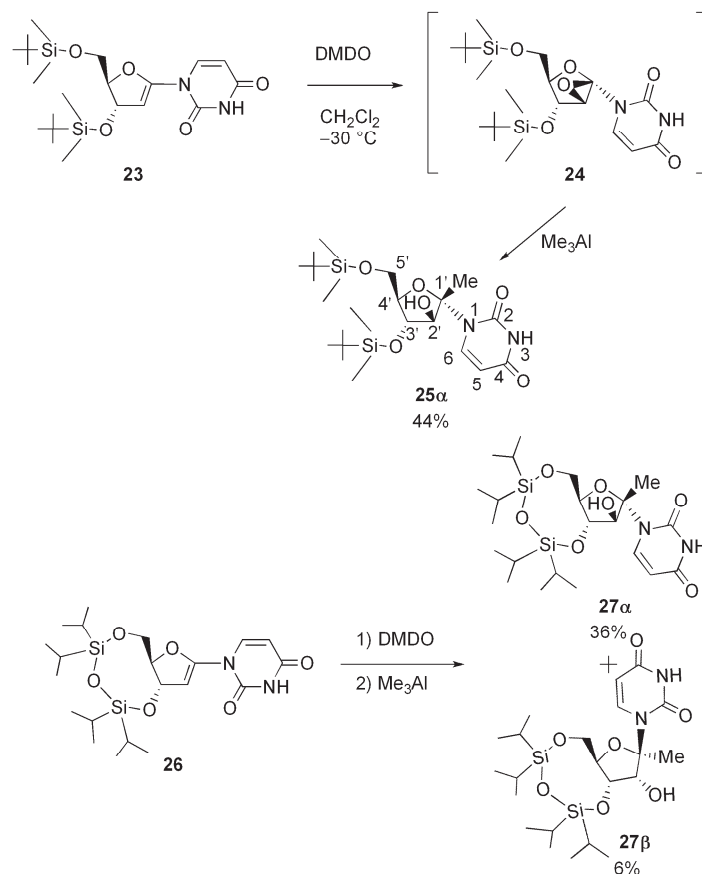
スキーム 8 1', 2'-エポキシヌクレオシドの化学的特性



スキーム 9 DMDO の調製



スキーム10 不飽和糖ヌクレオシドのエポキシ化とエポキシヌクレオシドの環開裂反応

スキーム11 1', 2'-不飽和ウリジン²³および26のエポキシ化 : MeAl による1', 2'-エポキシ誘導体の環開裂反応

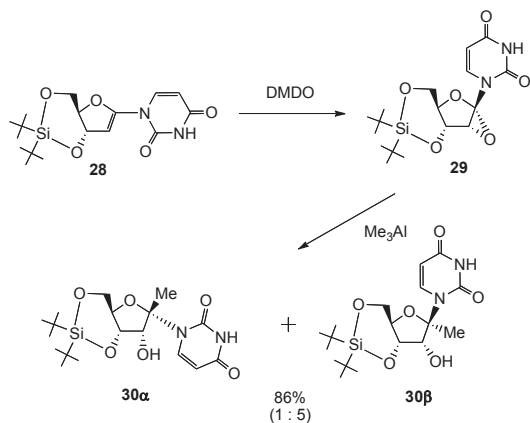
また、この研究の過程で、有望な抗 HIV 活性を示す4'-エチニル-d4T, すなわち Festinavir を見出すことができた。

3. 1', 2'-エポキシヌクレオシドの *syn*-選択的な環開裂 : 1'位に炭素鎖の分岐したリボヌクレオシドのβ-アノマーの立体選択的な合成²³⁾

TBDMS 基で保護された1', 2'-不飽和ウリジン(23)を塩化メチレン中、-30 °CでDMDOと反応させたところ、速やかに原料は消失した(スキーム11)。生成したエポキシドは不安定であったため、¹H NMR によってその構造を確認することができなかった。そこで反応液を Me₃Al で処理した結果、1'-C-メチルウラシルヌクレオシド(25α)が単一の生成物として得られた。化合物25αの化学構造はNOE実験においてH-6/H-4', CH₃-1'/H-3'およびH-2'/H-4'の間に相関が認められたことにより、アラビノフラノシル体と決定した。化合物25αの2'位の水酸基の立体配置に基づき、23

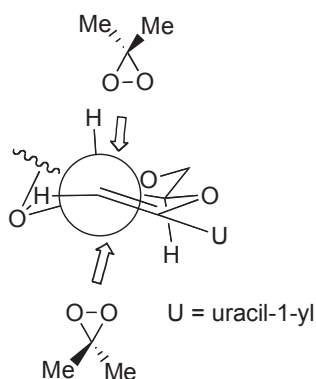
のエポキシ化では1', 2'-“up”-エポキシド(24)が選択的に生成していることが判った。このDMDOによるエポキシ化とMe₃Alによる環開裂反応を1, 1, 3, 3-(テトライソプロピルジシロキサン-1, 3-ジイル)(TIPDS)基で保護された26に対して行ったところ、27αが主生成体として得られた。この結果は23や26のエポキシ化がエノールエーテルのα面で優先的に進行していることを示している。

一方、ジ-*t*-ブチルシリレン(DTBS)基で保護された28の酸化反応により得られたエポキシドは¹H NMRによる構造決定が可能であり、NOE実験から1', 2'-“down”-エポキシド(29)と決定した(スキーム12)。エポキシド29とMe₃Alとの反応を行ったところ、目的物である *syn*-adduct(30β)とそのエピマーである *anti*-adduct(30α)が異性体比5 : 1で86%の収率で得られた。化合物28の分子模型および *J*_{3', 4'}値(11.0 Hz)に基づき糖部分の2'位と3'位の結合軸に沿って見たニューマンの投影式を図5に



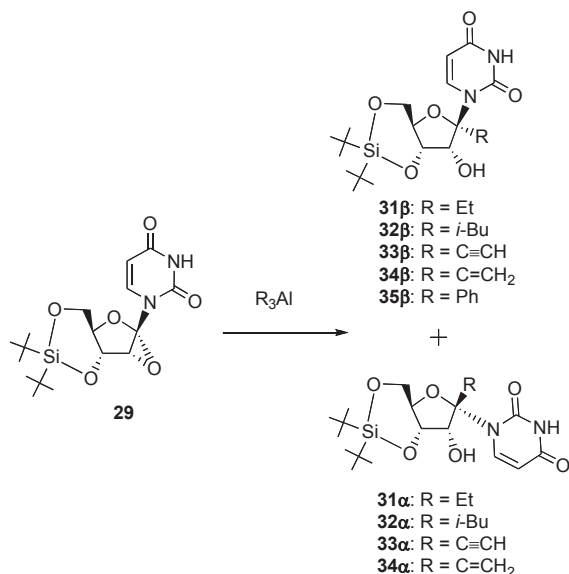
スキーム12 1', 2'-不飽和ウリジン28のエポキシ化：
Me₃Al による1', 2'-エポキシ誘導体29の環開裂反応

β-face attack, eclipsing interactions
disfavoured



α-face attack, staggered interactions
favoured

図5 DMDO による28のエポキシ化におけるα-面選択
制性の説明



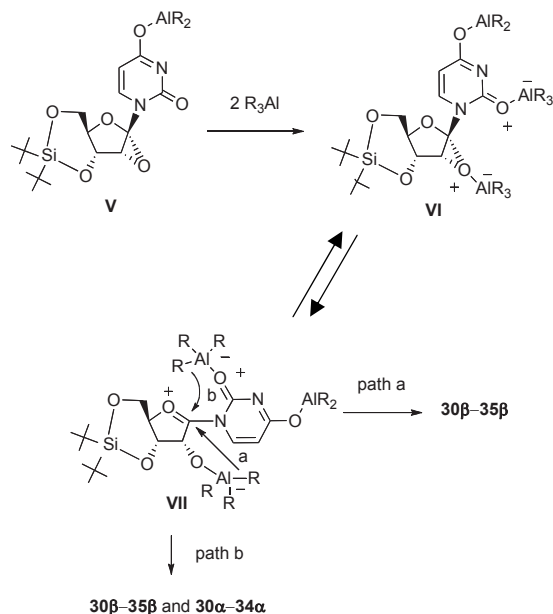
スキーム13 1', 2'-エポキシ誘導体29と有機アルミニウ
ム試剤との反応

示した. この投影式から明らかなように, **28**の3'位の水素原子がシュードアキシャル位を占めている. DMDO がエノールエーテルのβ面から接近した場合, 3'位の水素原子との立体反発が生じるため, エポキシ化はα面で選択的に進行し**29**のみが得られたと現在考えている. 一方, TBDMS 体**23**および TIPDS 体**26**の場合, その $J_{3',4'}$ 値(**23**; 2.6Hz, **26**; 4.4Hz)から3'位の水素原子がシュードエクアトリアル位を占めていることが推測された. したがって, **23**と**26**のエポキシ化では, 3'位のシリルオキシ基の立体障害が優位となり, 1', 2'-“up”-エポキシド(**24**)が選択的に生成したと考えている.

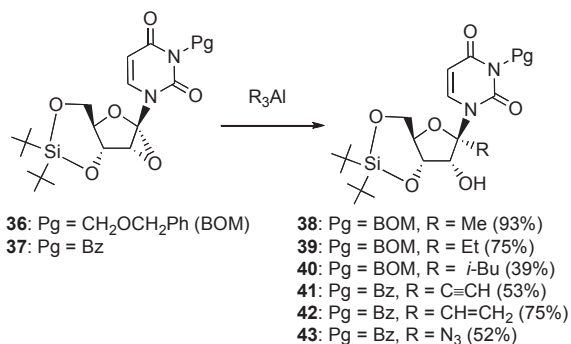
つぎに, エポキシド**29**と他のアルミニウム試剤との反応を行い(スキーム13), その結果を表1に示した(エントリー1に Me₃Al との反応の結果を示した). エントリー3に示したトリイソブチルアルミニウムとの反応ではヒドリド還元が進行したため, 1'-C-イソブチル体(**32**)の単離収率の低下が認められたが, エチル体(**31**), エチニル化(**33**), ビニル体(**34**)およびフェニル体(**35**)は中程度から良好な収率で得られた. また, 表1のβ-アノマーとα-アノマーの生成比を見て判るように, 目的物であるβ-アノマーを主生成物として得ることができたが, Ph₃Al との反応以外は常に“*anti*-adduct”であるα-ヌクレオシドの副生が認められた. この結果を説明するための推定反応機構をスキーム14に示した. エポキシド**29**は有機アルミニウム試剤と反応しアルミネート**V**となり, 引き続き**V**のカルボニル酸素原子とエポキシ環の酸素原子へのアルミニウム試剤の配位により中間体**VI**へ変換され, オキシニウムイオン**VII**との平衡状態となる. オキシニウムイオン**VII**の2'-O-アルミネートからのリガンドトランスファー, 即ち“path a”に従って求核付加が進行するとβ-アノマーが生成し, “path b”に示した攻撃が起こる場合, グリコシル結合周りのコンフォメーションに依存し, β-ヌクレオシドとα-ヌクレオシドが生成すると考えられる. 表1のエントリー6に示した Ph₃Al との反応では, その嵩高さのため2位のカルボニル酸素原子への配位が起こらないために, β

表1 1', 2'-エポキシ誘導体29と有機アルミニウム試剤との反応

entry	R ₃ Al (equiv)	products	isolated yield (%)	ratio of β/α
1	Me ₃ Al (3)	30β/30α	86	5/1
2	Et ₃ Al (3)	31β/31α	90	4/1
3	<i>i</i> -Bu ₃ Al (6)	32β/32α	35	9/1
4	(HC≡C) ₃ Al (6)	33β/33α	64	4/1
5	(H ₂ C=CH) ₃ Al (6)	34β/34α	90	32/1
6	Ph ₃ Al (6)	35β	55	—



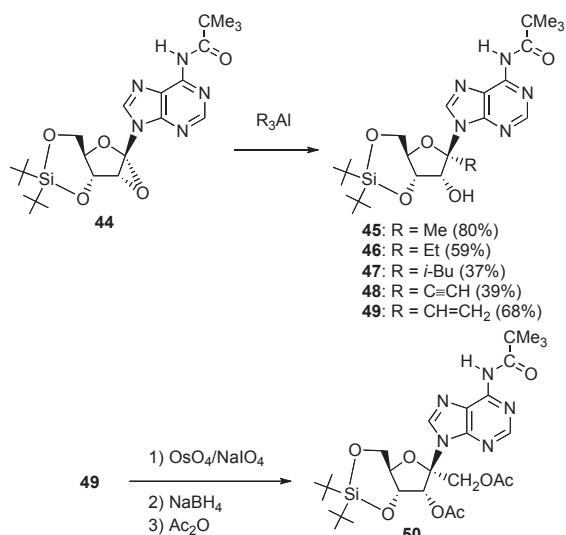
スキーム14 1', 2'-エポキシ誘導体29と有機アルミニウム試剤との反応の推定機構

スキーム15 N³位を保護した1', 2'-エポキシ誘導体36あるいは37と有機アルミニウム試剤との反応

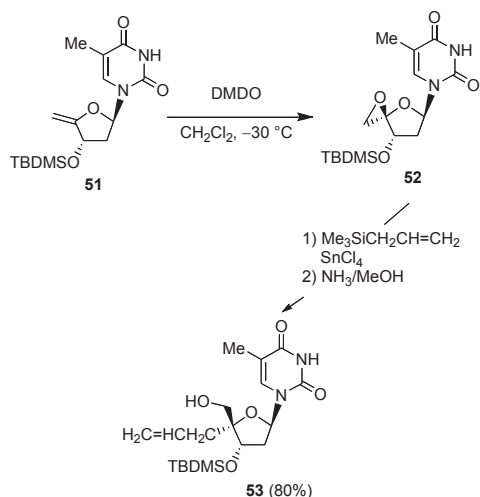
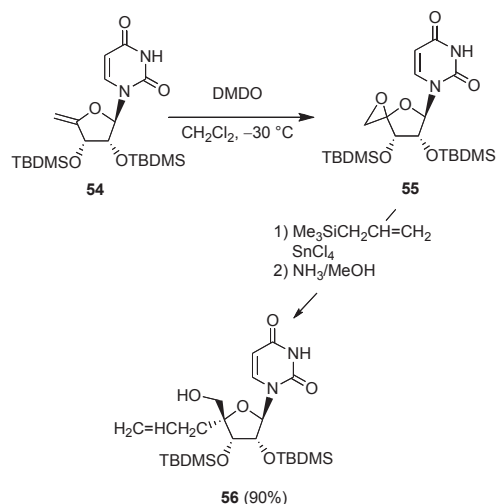
ヌクレオシドのみが得られたと考えている。以上の考察に基づくと、N³位に嵩高い保護基を導入することにより2位のカルボニル酸素原子への配位が阻害され、”*syn*-adduct”であるβ-ヌクレオシドのみが得られると推察した。この考察を検証するために、ウラシル部N³位をベンジルオキシメチル(BOM)基あるいはベンゾイル(Bz)基で保護した**36**および**37**とアルミニウム試剤との反応を行

った(スキーム15)。その結果、1'-C-メチル体(**38**)を単一の立体異性体として93%の収率で得ることができた。この*syn*-選択的な環開裂反応はEt₃Al, *i*-Bu₃Al との反応でも認められ、エチル体(**39**)およびイソブチル体(**40**)を75%および39%の収率で得ることができた。イソブチル体**40**の合成では、ヒドリド還元による生成物が副生し、収率が低い値となった。化合物**38-40**のN³位のBOM基は接触還元により容易に脱保護することができた。一方、1'位に導入された置換基が接触還元に対して反応性を示す場合には、N³-Bz体**37**を基質として用いた。エポキシド**37**とアルミニウム試剤との反応も*syn*-選択的に進行しエチニル体(**41**)、ビニル体(**42**)およびアジド体(**43**)を単一の立体異性体としてそれぞれ53%, 75%および52%の収率で得ることができた。化合物**41-43**はメタノール性アンモニアで処理することにより、対応する脱ベンゾイル体へ定量的に変換することができた。

最後に、1'-分岐糖アデノシンの合成を検討した(スキーム16)。1', 2'-“down”-エポキシド**44**とMe₃Al との反応を行ったところ、1'-C-メチルアデノシン(**45**)を80%の収率で得た。同様に、エチル体(**46**)、イソブチル体(**47**)、エチニル体(**48**)およびビニル体(**49**)を単一の異性体として得ることができた。トリイソブチルアルミニウムとの反応では、還元体の副生が認められ、**47**の単離収率は37%となった。ビニル体**49**はオスmium酸化およびヒドリド還元を経て、アングストマイシンCの保護体**50**へ変換した。これは、アデノシンからアングストマイシンCを合成した最初の例となった。以上のように、1', 2'-不飽和糖ヌクレオシドの面選択的なエポキシ化により得られる1', 2'-“down”-エポキシドの有機アルミニウム試剤による*syn*-選択的な環開裂反応により、1'-分岐糖構造を有するピリミジンおよびプリンリボヌクレオシドの立体選択的な合成法を開発することができた。



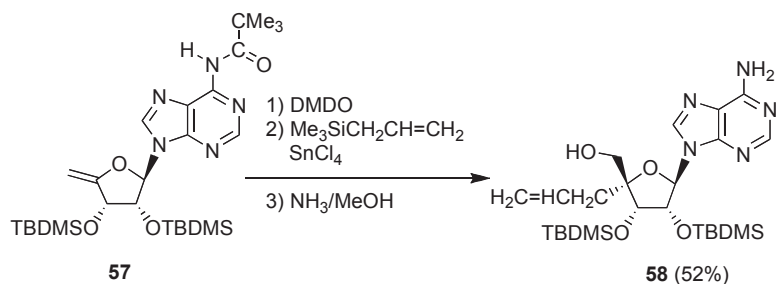
スキーム16 1', 2'-エポキシ誘導体44と有機アルミニウム試剤との反応および angustmycin C の合成

スキーム17 4', 5'-不飽和チミジン51のエポキシ化と Me₃SiCH₂CH=CH₂による4', 5'-エポキシ誘導体52の環開裂反応スキーム18 4', 5'-不飽和ウリジン54のエポキシ化と Me₃SiCH₂CH=CH₂による4', 5'-エポキシ誘導体55の環開裂反応

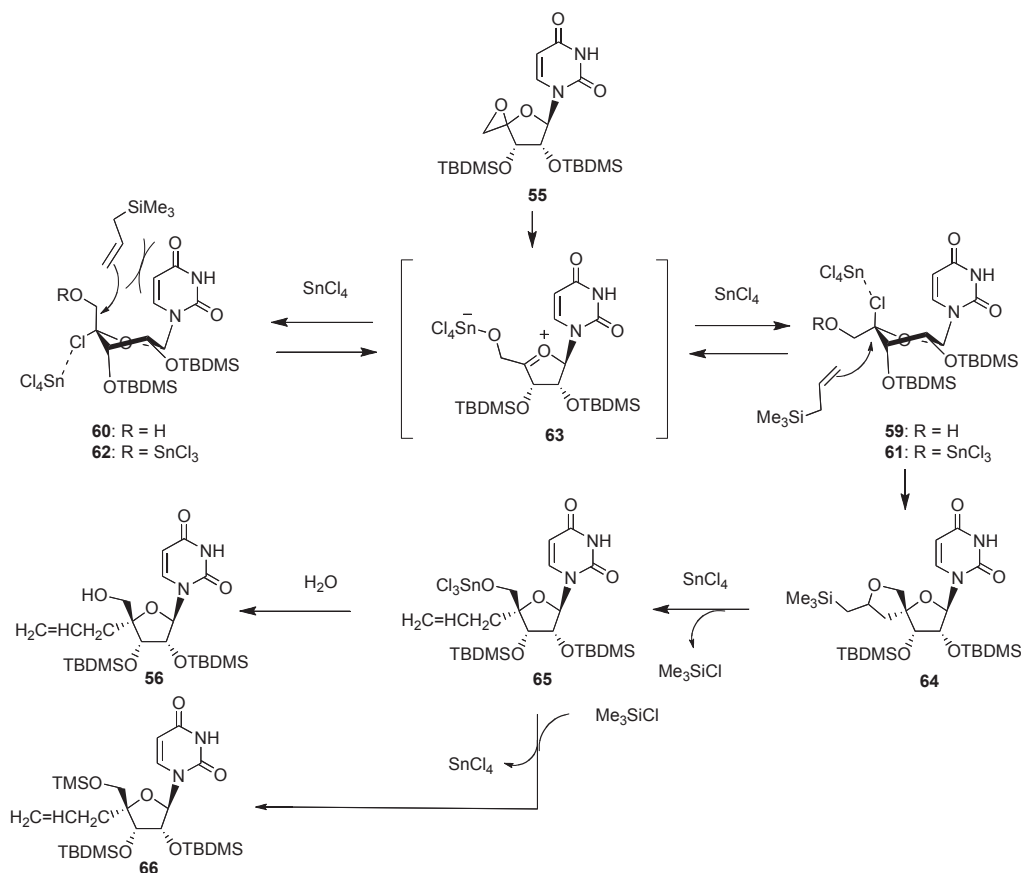
4. 4',5'-エポキシヌクレオシドの環開裂反応を基盤とする4'位に炭素鎖の分岐したヌクレオシドの立体選択的な合成²⁴⁻²⁸⁾

チミジンから三工程で得られる4', 5'-不飽和チミジン(51)を DMDO 酸化に付したところ, 4', 5'-エポキシチミジン(52)が単一の立体異性体として得られた(スキーム17). 引き続き, 52を四塩化スズの下で, アリルトリメチルシランと反応させた後, 反応混合物をメタノール性アンモニアで処理したところ4'-α-アリルチミジン(53)のみが80%の収率で得られた. 次に, 4', 5'-不飽和ウリジン(54)のエポキシ化により単一の立体異性体として得られる55を先と同様の反応条件下, アリル化反応に付したところ, 4'-α-アリルウリジン(56)のみが90%という良好な収率で得られた(スキーム18). この反応はプリンヌクレオシドへも適用可能であり, 57から4'-α-アリルアデノシン(58)を単一の立体異性体として52%の収率で得ることができた(スキーム19).

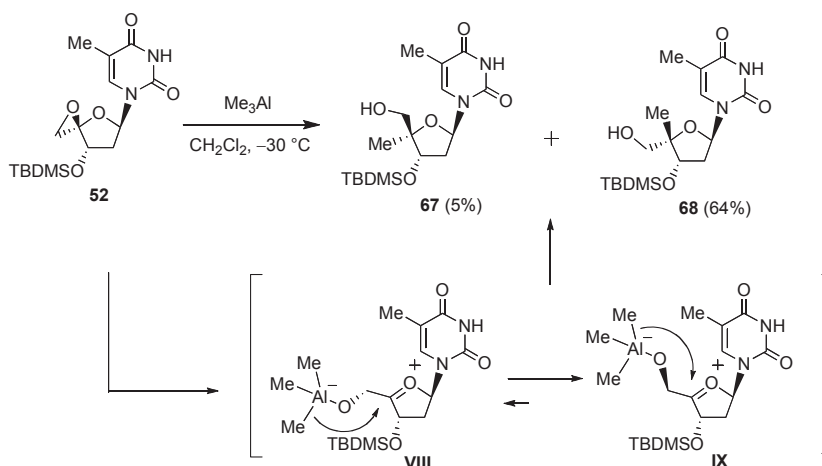
この立体選択的なアリル化反応の機構を推定する目的で, 55のアリル化を詳細に調べた. エポキシド55を塩化メチレン中, 四塩化スズと反応させたところ4'-クロロ体59と60が得られた. クロロ体59と60をそれぞれ四塩化スズで処理したところ, 異性化が起こり59と60の混合物が得られた. 次に, 4'-β-クロロ体59の塩化メチレン溶液にアリルトリメチルシランを加えたところアリル化反応は進行しなかったが, 四塩化スズを添加したところ59は速やかに消失しスピロ体64がジアステレオマーの混合物として得られた. 反応液中では64は徐々に4'-C-アリル体56とそのトリメチルシリル体66へ変換された. 以上の実験結果から, スキーム20に示した反応機構でアリル化が進行していると推定している. 即ち, エポキシド55から最初に生成するクロロ体61と62は反応液中では, オキソニウムイオン63を経由して平衡状態として存在している. アリルトリメチルシランと4'-α-クロロ体62との置換反応は脱離基であるクロロ基がシュードエクアトリアル配置であるため速度論的に不利であるとともに, ウラシル塩基部分との立体障害のため進行しにくいと考えられる.



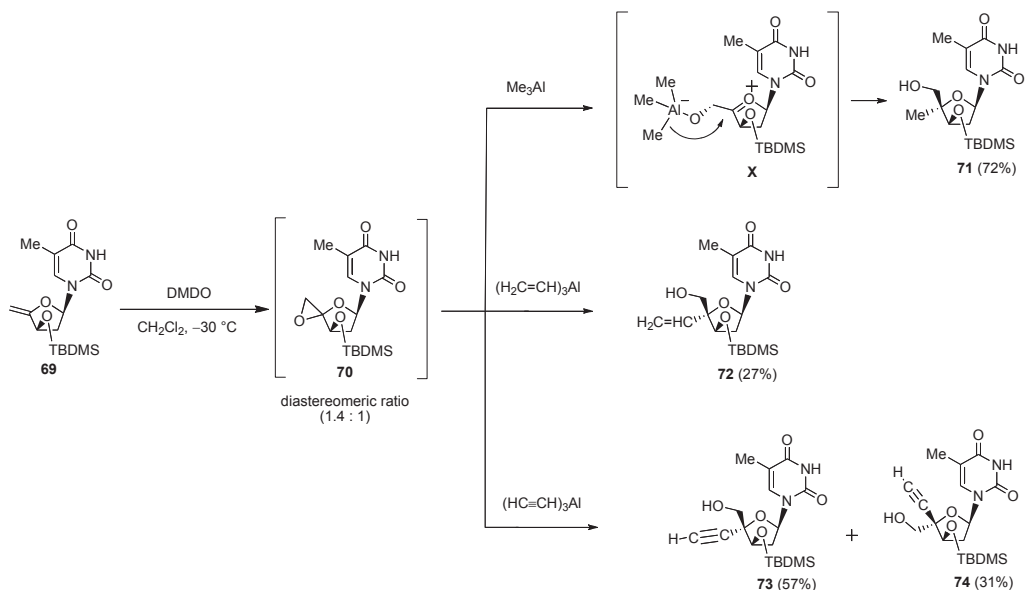
スキーム19 4', 5'-不飽和アデノシン57のエポキシ化と $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ による4', 5'-エポキシ誘導体55の環開裂反応



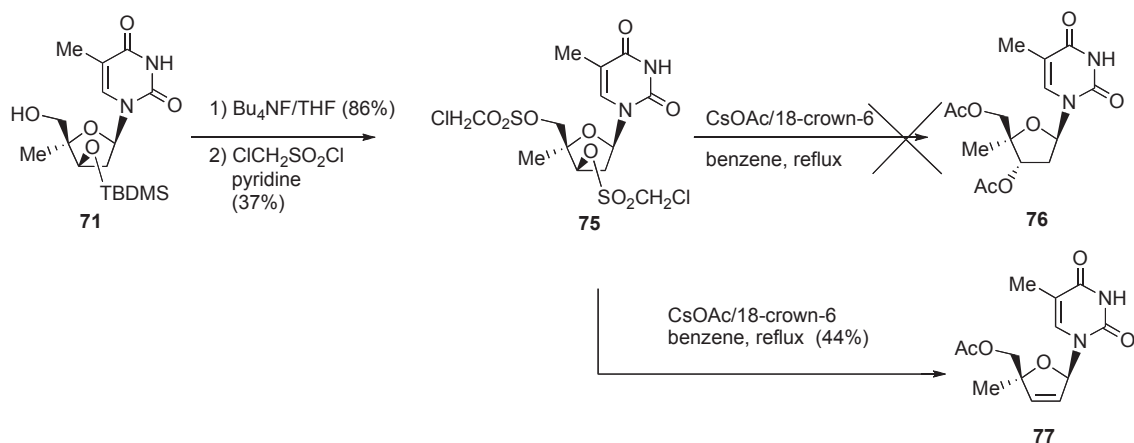
スキーム20 $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ による4', 5'-エポキシ誘導体55の環開裂反応の推定反応機構



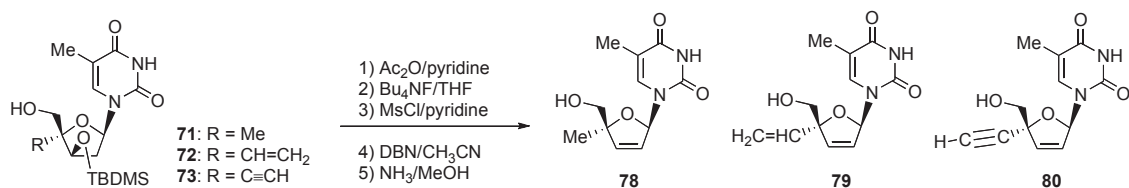
スキーム21 4', 5'-エポキシチミジン52の Me_3Al による環開裂反応



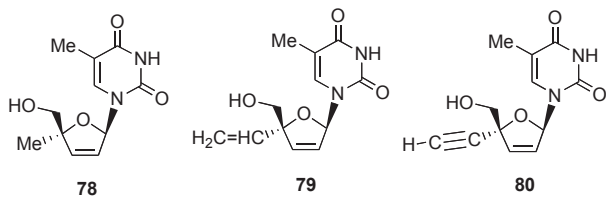
スキーム22 4', 5'-エポキシチミジンヌクレオシド69の有機アルミニウム試剤による環開裂反応



スキーム23 3'位の立体配置の反転による4'-炭素置換チミジン76の合成の試みと脱離成績体77の生成



スキーム24 4'-炭素置換スタブジン78-80の合成



Compd	IC ₅₀ (μM) ^a	IC ₅₀ (μM) ^b
78	> 100	> 100
79	> 100	> 100
80 (4'-Ed4T)	0.20	> 100
stavudine	2.8	100

^a Inhibitory concentration required to achieve 50% protection of MT-2 cells against the cytopathic effect of HIV-1 III_B.

^b Cytotoxic concentration required to reduce the viability of mock-infected MT-2 cells by 50%.

 表2 4'-炭素置換スタブジン78-80の抗 i-HIV-1_{III_B} 活性

一方、4'- β -クロロ体(**61**)とアリルトリメチルシランとの置換反応は脱離基がシュードアキシャル配置であるため速度論的に有利であるとともに、塩基部分の立体障害を受けないため、 α -側からのアリルトリメチルシランの求核攻撃が起こり、スピロ体**64**へと変換された後、スピロ環の開裂を経て4'-アリルウリジン誘導体**56**と**66**が得られると推定している。

次に、4', 5'-エポキシチミジン**52**の Me_3Al による環開裂反応を検討した(スキーム21)。その結果、目的化合物である4'- α -メチルチミジン(**67**)の収率は5%となり、主成績体はそのエピマーである**68**(64%)であった。この反応では、中間体 **VIII** と **IX** が平衡混合物として存在しているが、3'位のシリルオキシ基とアルコキシ基との立体反発を避けることのできるコンフォマー**IX** が優位に存在しているため、**68**が主成績体として得られたと考えている。この立体的影響を検証するために、3'位のシリルオキシ基が反対の立体配置を有する4', 5'-エポキシド**69**と有機アルミニウム試剤の反応を行った。即ち、**69**を DMDO 酸化に付したところ、4', 5'-エポキシヌクレオシド**70**が1. 4 : 1のジアステレオマーの混合物として得られた(スキーム22)。引き続き、**70**と Me_3Al との反応を行った結果、オキソニウムイオン**X**を経て、目的の立体配置を有する4'- α -メチルチミジン(**71**)が単一の立体異性体として得られた。同様に、 $(\text{H}_2\text{C}=\text{HC})_3\text{Al}$ との反応に於いても**72**のみを選択的に得ることができた。一方、**70**と $(\text{HC}\equiv\text{C})_3\text{Al}$ との反応では、目的とする4'- α -エチニル体(**73**)を57%で得ることができたが、エピマーである**74**が31%で副生した。この理由については明らかではない。化合物**71**の3'位の立体配置の反転によりチミジン誘導体**76**を合成する目的でクロロメシル体(**75**)と CsOAc との置換反応を行ったところ、目的物**76**は得られず、脱離生成体**77**が得られた(スキーム23)。化合物**77**は抗 HIV 薬であるスタブジンの4'-炭素置換体であることから、先に合成した**71-73**を4'-置換スタブジンへ変換し(スキーム24)、その抗 HIV 活性を調べた。表2には MT-2細胞をホストセルに用いた HIV-1_{IIIb} に対する**78-80**の抗ウイル

ス活性の結果を示した。4'-メチル体(**78**)には弱いながらも抗 HIV 活性を示すことが報告されているが、本アッセイ系では活性を示さなかった²⁵⁾。ビニル体(**79**)にも活性は認められなかったが、興味あることにエチニル体(**80**)、即ち4'-Ed4 Tが母化合物であるスタブジンよりもより強力な抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった。その後の研究により、4'-Ed4 T(Festinvir)は有望な生物学的プロファイルを有していることが判った²⁸⁾。

5. おわりに

冒頭でも紹介したように、分岐糖構造を有するヌクレオシドはその多様な生物活性から核酸有機化学研究者のターゲット分子として着目され、多くの研究成果が報告されている。しかしながら、立体化学を制御しながら様々な炭素官能基を導入することが可能な一般性のある合成手法はほとんどない。本稿では、不飽和糖ヌクレオシドの DMDO による酸化反応により得られるエポキシヌクレオシドの環開裂反応を基盤とすることにより、分岐糖ヌクレオシドの効率的な合成経路を確立することができた。Festinvir の開発で示されるように分岐糖ヌクレオシドが創薬のための素材分子として、高い潜在性を有することは明らかである。今後、不飽和糖ヌクレオシドの可能性を更に追求することにより分岐糖ヌクレオシドの新たな合成法を確立するとともに核酸化学を基盤とする創薬研究をこれからも進めて行きたいと考えている。

6. 謝 辞

本研究は、薬品製造化学教室の田中博道教授のご指導のもと行われた。4', 5'-エポキシヌクレオシドの化学は竹田真吾修士、1', 2'-および3', 4'-エポキシヌクレオシドの化学は窪田豊博士、また4'-Ed4T の構造活性相関に関する研究は熊本浩樹博士をはじめとする多くの教室員の努力の賜物であり、ここに記して感謝の意を表します。また、本研究はヒューマンサイエンス振興財団、オンコリスバイオファーマ、薬学研究奨励財団および文部科学省科学研究費の支援のもとで行われたも

のであり、併せて深謝いたします。

7. 文 献

- 1) Matsuda, A.: Recent development of anti-HIV nucleosides., J. Synth.Org. Chem., Jpn., 48, 907-920 (1990)
- 2) Ichikawa, E., Kato, K.: Advance in synthesis of sugar-modified nucleosides in past 10 Years., J. Synth.Org. Chem., Jpn., 48, 907-920 (1990)
- 3) Huryn, D. M., Okabe, M.: AIDS-driven nucleoside chemistry., Chem. Rev., 92, 1745-1768 (1992)
- 4) De Clercq, E.: The design of drugs for HIV and HCV., Nature Review, 6, 1001-1018 (2007)
- 5) McCarthy, J. R. Jr., Robins, R. K., Robins, M. J.: Purine nucleosides. XXII. synthesis of angustmycin A (decoynine) and related unsaturated nucleosides., J. Am. Chem. Soc., 90, 4993-4999 (1968)
- 6) Hattori, H., Tanaka, M., Fukushima, M., et al.: Nucleosides and Nucleotides. 158. 1-(3-*C*-Ethynyl- β -D-ribo-pentofuranosyl)cytosine, 1-(3-*C*-ethynyl- β -D-ribo-pentofuranosyl)uracil and their nucleobase analogues as new potential multifunctional antitumor nucleosides with a broad spectrum of activity., J. Med. Chem., 39, 5005-5011 (1996)
- 7) O-Yang, C., Wu, H. Y., Fraser-Smith, E. B., et al.: Synthesis of 4'-cyanothymidine and analogs as potent inhibitors of HIV. Tetrahedron Lett., 33, 37-40 (1992)
- 8) Itoh, Y., Haraguchi, K., Tanaka, H., et al.: Divergent and stereocontrolled approach to the synthesis of uracil nucleosides branched at the anomeric position., J. Org. Chem., 60, 656-662 (1995)
- 9) Kodama, T., Shuto, S., Ichikawa, S., et al.: A highly stereoselective samarium diiodide-promoted aldol reaction with 1'-phenylseleno-2'-keto nucleosides. synthesis of 1'- α -branched uridine derivative., J. Org. Chem., 67, 7706-7715 (2002)
- 10) Haraguchi, K., Itoh, Y., Matsumoto, K., et al.: Stereoselective synthesis of 1'-*C*-branched arabinofuranosyl nucleosides via anomeric radicals generated by 1,2-acyloxy migration., J. Org. Chem., 2003, 68, 2006-2009 (2003)
- 11) Kumamoto, H., Murasaki, M., Haraguchi, K., et al.: Nucleophilic addition of benzenethiol to 1',2'-unsaturated nucleosides: 1'-*C*-phenylthio-2'-deoxynucleosides as anomeric radical precursors., J. Org. Chem., 67, 6124-6130 (2002)
- 12) Kodama, T., Shuto, S., Nomura, M., et al.: An efficient method for the preparation of 1' α -branched-chain sugar pyrimidine ribonucleosides from uridine: the first conversion of a natural nucleoside into 1'-substituted ribonucleosides., Chem. Eur. J., 7, 2332-2340 (2001)
- 13) Sugimoto, I., Shuto, S., Mori, S., et al.: Nucleosides and nucleotides. 183. synthesis of 4' α -branched thymidines as a new type of antiviral agent., Bioorg. Med. Chem. Lett., 9, 385-388 (1999)
- 14) For a review, see: Smith, J. G.: Synthetically useful reactions of epoxides. Synthesis, 629-656 (1984)
- 15) Ashwell, M., Jones, A. S., Walker, R. T.: The synthesis of some branched-chain-sugar nucleoside analogues., Nucleic Acids Research, 15, 2157-2166 (1987)
- 16) Collins, P. M.; Ferrier, R. J. Monosaccharides: their chemistry and their roles in natural products; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 1985.
- 17) Postema, M. H. D. C-Glycoside Synthesis; CRC Press: Boca Raton, FL, 1985.
- 18) Allwein, S. P., Cox, J. M., Howard, B. E., et al.: C-Glycosides to fused polycyclic ethers. Tetrahedron, 58, 1997-2009 (2002)
- 19) Adam, W., Balas, J., Hadjarapoglou, L.: A Convenient preparation of acetone solution of dimethyldioxirane., Chem. Ber., 124, 2377 (1991)

- 20) Curci, R., Fiorentino, M., Troisi, L., et al.: Epoxidation of alkenes by dioxirane intermediates generated in the reaction of potassium caroate with ketones., J. Org. Chem., 45, 4758-4760 (1980)
- 21) Murray, R. W., Jeyaman, R.: Dioxiranes: synthesis and reaction of methyldioxiranes., J. Org. Chem., 50, 2847-2853 (1985)
- 22) Kubota, Y., Haraguchi, K., Kunikata, M., et al.: *Anti* versus *syn* opening of epoxides from 9-(3-deoxy- β -D-*glycero*-pent-3-enofuranosyl) adenine with Me₃Al: factors controlling the stereoselectivity., J. Org. Chem., 71, 1099-1103 (2006)
- 23) Haraguchi, K., Kubota, Y., Tanaka, H.: Ring opening of nucleoside 1',2'-epoxides with organoaluminum reagents: stereoselective entry to ribonucleosides branched at the anomeric position., J. Org. Chem., 69, 1831-1836 (2004)
- 24) Haraguchi, K., Takeda, S., Tanaka, H.: Ring opening of 4',5'-epoxynucleosides: a novel stereoselective entry to 4'-C-branched nucleosides., Org. Lett., 5, 1399-1402 (2003)
- 25) Haraguchi, K., Takeda, S., Tanaka, H., et al.: Synthesis of a highly active new anti-HIV agent 2',3'-didehydro-3'-deoxy-4'-ethynylthymidine. Bioorg. Med. Chem. Lett., 13, 3775-3777 (2003)
- 26) Dutschman, G. E., Grill, S. P., Gullen, E. A., et al.: Novel 4'-substituted stavudine analog with improved anti-human immunodeficiency virus activity and decreased cytotoxicity. Antimicrob. Agents Chemother. 48, 1640-1646 (2004)
- 27) Nitanda, T., Wang, X., Kumamoto, H., et al.: Anti-human immunodeficiency virus type 1 activity and resistance profile of 2',3'-didehydro-3'-deoxy-4'-ethynylthymidine in vitro. Antimicrob. Agents Chemother., 49, 3355-3360 (2005)
- 28) Yang, G., Wang, J., Cheng, Y., et al.: Mechanism of inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase by a stavudine analogue, 4'-ethynyl stavudine triphosphate., Antimicrob. Agents Chemother. 52, 2035-2042 (2008)

Stereo-defined synthesis of branched sugar nucleosides on the basis of reaction of epoxy-sugar with organosilicon or organoaluminum reagent: development of anti-HIV agent Festinavir

Kazuhiro Haraguchi

School of Pharmacy, Showa University

Abstract

Stereoselectivity of epoxidation of 1',2'-unsaturated uridine varied by changing silyl protecting group of the 3'- and 5'-hydroxyl groups. Using 3',5'-O-(di-*t*-butylsilylene)-protected derivative, the 1',2'-"down" epoxide was formed exclusively. Although the ring opening of this epoxide with organoaluminum reagents (R_3Al) led to the formation of various types of 1'-branched uridines, their α -anomers were also formed. It was assumed that the α -anomers would be formed through coordination of R_3Al to the carbonyl oxygen of the 2-position of the base moiety. This was supported by the fact that both N^3 -benzyloxymethyl and N^3 -benzoyl derivatives gave the desired β -anomers exclusively.

In the reaction between epoxides obtained from 4',5'-unsaturated thymine-nucleosides and Me_3Al , stereochemistry of the introduced 4'-methyl group is controlled by the configuration of the 3'-O-silyl group. Thus, the *threo*-isomer gave the 4'-methyl- β -D-nucleoside exclusively, while the *erythro*-isomer gave the 4'-methyl- α -L-nucleoside as the main product. The 4'-vinyl and 4'-ethynylthymine nucleosides were also synthesized by reacting the *threo*-isomer of 4',5'-epoxynucleoside with the respective organoaluminum reagents. Among these novel 4'-branched nucleosides synthesized in this study, 2',3'-didehydro-3'-deoxy-4'-ethynylthymidine (Ed4T, Festinavir) was found to be more inhibitory against HIV-1 than the parent compound stavudine (d4T), and much less toxic to various cells and also to mitochondrial DNA synthesis.

Key Words : nucleoside, epoxide, stereo-control, branched-sugar, anti-HIV activity

Received 4 February 2011; accepted 2 May 2011.

